

Inhalt

Abbildungen und Tabellen	iv
Abkürzungsverzeichnis.....	vi
Zusammenfassung	1
Summary	2
1. Einleitung	3
1.1 SIRS	3
1.1.1 Epidemiologie	4
1.1.2 Diagnose	5
1.1.3 Therapie.....	8
1.1.4 Pathophysiologie	8
1.2 Surface Enhanced Laser Desorption Ionization - Time of Flight - Mass Spectrometry (SELDI-TOF-MS)	14
1.3 Flüssigchromatographie Tandem Massenspektrometrie (LC-MS/MS)	16
1.4 Zielstellung.....	19
2. Material und Methoden.....	20
2.1 Chemikalien/Geräte/Software	20
2.2 Puffer und Lösungen.....	23
2.2.1 Polyacrylamid Gelelektrophorese (PAGE)	23
2.2.2 Western Blot.....	26
2.2.3 SELDI	27
2.2.4 Immundepletion	27
2.3 AAT-Anreicherung.....	28
2.4 Albumin-Depletion.....	28
2.5 Anionenaustauschchromatographie	28
2.6 Fibrinogen-ELISA	29
2.7 Tryptischer In-Gel-Verdau (IGV)	29
2.8 Tryptischer Verdau in Lösung (ILV).....	30
2.9 Identifizierung der tryptischen Fingerprints mittels MALDI-TOF-MS.....	30
2.10 Isoelektrische Fokussierung (IEF).....	31
2.11 Immundepletion	32
2.12 Massenspektrometrie.....	32
2.12.1 SELDI-TOF-MS	32

2.12.2	4,8 kDa-AAT-Peptid-Quantifizierung mittels LC-MS-MS	35
2.12.3	Metabolomics	36
2.13	PAGE	37
2.14	Patienten und Probanden.....	37
2.14.1	TMWFK-Studie	37
2.14.2	TraumArraytor-Studie	38
2.14.3	LabAlerts-Pilot-Studie	38
2.14.4	Gesunde Probanden	39
2.15	Proteinbestimmungen	39
2.15.1	Albumin, Transferrin und Gesamtprotein	39
2.15.2	Alpha-1-Antitrypsin und Transthyretin.....	39
2.15.3	Procalcitonin.....	39
2.16	Statistik	39
2.16.1	Test auf Signifikanz	39
2.16.2	ROC-Kurven.....	40
2.16.3	Boxplots	40
2.16.4	Korrelation.....	41
2.17	Western-Blot.....	41
2.17.1	Nassblot	41
2.17.2	Semidry-Blot	42
3.	Ergebnisse	43
3.1	Vorarbeiten.....	43
3.2	Identifizierung und Validierung des 13,8 kDa-Peaks	45
3.3	Identifizierung und Validierung des 55 kDa-Peaks.....	46
3.3.1	AAT -Gelelektrophorese und Western-Blot.....	47
3.3.2	Isoelektrische Fokussierung.....	49
3.3.3	AAT-Aufreinigung	50
3.4	Identifizierung des 4,8 kDa-Peaks	51
3.4.1	Zusammenfassung 4,8 kDa- und 55 kDa-Peak	53
3.5	Methodenentwicklung zur Quantifizierung des 4,8 kDa-AAT-Peptids	54
3.5.1	Quantifizierung des 4,8 kDa-AAT-Peptids in 5 Patientenkollektiven.....	59
3.6	Metabolomics	63
4.	Diskussion.....	68

4.1	Identifizierung der Peaks aus den SELDI-Untersuchungen.....	69
4.1.1	Transthyretin als 13,8 kDa-Peak	69
4.1.2	α -1-Antitrypsin als 55 kDa- und 4,8 kDa-Peak.....	69
4.2	Quantifizierungsmethode für das 4,8 kDa-AAT-Peptid.....	71
4.2.1	Limitationen.....	74
4.3	Quantifizierung des 4,8 kDa-AAT-Peptids in Patientenproben.....	75
4.4	Proteasen, die zur 4,8 kDa-AAT-Peptid-Generierung beitragen.....	76
4.5	Metabolomics	80
4.6	Patienten.....	81
4.7	Ausblick.....	83
5.	Referenzen	85
6.	Anhang	I
6.1	Klinische Daten der Patienten für die SELDI-Analysen	I
6.2	Metabolite des „AbsoluteIDQ kit p180“ von Biocrates	II
6.3	Untersuchung klinischer Einflüsse auf die C10:1- und PCaaC32:0-Konzentrationen.....	VII
6.4	Unterschiede zwischen richtig und falsch klassifizierten Patienten.....	X
6.5	Sequenz von α -1-Antitrypsin	XII
6.6	Danksagung.....	XIII
7.	Anlagen	- 1 -
7.1	Eidesstattliche Erklärung	- 1 -
7.2	Publikationsverzeichnis	- 2 -
7.2.1	Artikel	- 2 -
7.2.2	Poster.....	- 2 -
7.2.3	Vorträge.....	- 2 -